

Hamburg, 29.9.2015

Abschlussbericht über das durch die Anni Hofmann Stiftung geförderte Forschungsprojekt "Bedeutung des Hirntumormetabolismus für die Interaktion zwischen Tumorzellen und Hirngewebe"

Ziel des Forschungsprojekts ist die Feincharakterisierung tumorspezifischer metabolischer Dysregulationen, um auf metabolischer Ebene selektive und effektive Therapieansätze für Glioblastome zu entwickeln. Das Projekt baut auf Vorarbeiten auf, in denen wir einen sauerstoffkonzentrationsabhängigen metabolischen Switch zwischen dem Pentosephosphatweg (PPP) und der Glykolyse in Glioblastomzellen nachgewiesen hatten¹. Der PPP ist ein alternativer, anaboler Stoffwechselweg zum ersten Abschnitt der Glykolyse, über den Ribose-5-Phosphat und NADPH produziert werden, welche für die Synthese von DNA/RNA und Fettsäuren bzw. zur Reduktion von Glutathion benötigt werden. Unsere Vorarbeiten hatten gezeigt, dass Enzyme des PPP unter Normoxie hoch exprimiert sind, wohingegen Hypoxie zu einer Herunterregulation des PPP mit verstärkter Expression von Glykolyseenzymen und verstärktem Flux durch die Glykolyse führt. Darüberhinaus fanden wir, dass der Switch assoziiert ist mit gesteigerter Zellmigration bei Hypoxie bzw. gesteigerter Zellproliferation bei Normoxie. Auch im Glioblastomgewebe zeigte sich eine besonders hohe Expression von Glykolyseenzymen in stark hypoxischen Regionen sowie in hochmigratorischen Zellen, wohingegen diese Enzyme in hochproliferativen Arealen herunterreguliert sind, einhergehend mit einer starken Heraufregulation von PPP Enzymen. Aufbauend auf diesen Vorarbeiten waren in dem Antrag drei Arbeitszielsetzungen formuliert worden:

1. Die Untersuchung, ob der PPP bzw. die Glykolyse auch unabhängig von Schwankungen der Sauerstoffkonzentration mit verstärkter Proliferation bzw. verstärkter Migration von Glioblastomzellen assoziiert sind.
2. Die Untersuchung, ob die Zellmigration/Invasion bzw. die Proliferation von Glioblastomzellen selektiv durch Herunterregulation von Schlüsselenzymen der Glykolyse bzw. des PPP sowie durch Enzyminhibitoren inhibiert werden können.
3. Die Untersuchung, ob der sauerstoffkonzentrationsabhängige Switch zwischen PPP und Glykolyse nur für Glioblastomstammzellen zutrifft oder ein generelles Phänomen auch in anderen Zelltypen ist.

Die Bearbeitung dieser drei Ziele verlief insgesamt sehr erfolgreich, so dass die wichtigsten Ergebnisse nun in einem Publikationsmanuskript zusammengefasst werden können, welches diesem Bericht beigelegt ist (Kathagen-Buhmann et al.). Das Manuskript wurde am 21.9. zur Begutachtung bei der Zeitschrift Neuro-Oncology eingereicht, und hierin ist der Förderung durch die Anni Hofmann Stiftung an erster Stelle gedankt. Im Folgenden werden die zu den einzelnen Zielen erbrachten Ergebnisse im Einzelnen dargestellt. Dabei wird auf Abbildungen verzichtet, da diese bereits in dem beigelegten Manuskript enthalten sind, so dass an den entsprechenden Stellen hierauf verwiesen wird.

Arbeiten zu Ziel 1

Im ersten Förderungsjahr wurde zunächst eine Methode zur Isolation hochproliferativer bzw. hochmigratorischer Glioblastomzellsubpopulationen entwickelt. Dabei zeigte sich, dass die ursprünglich im Antrag geplanten Techniken nicht für eine Anwendung bei Glioblastomstammzelllinien (GS-Linien) geeignet waren, da diese im Gegensatz zu konventionellen adhärenz Glioblastomzelllinien einerseits zu langsam proliferieren und andererseits in Monolayer-Migrationsassays zu leicht von der Kulturoberfläche abschwimmen. Die Isolation hochproliferativer GS-Zellen gelang schließlich durch eine Markierung der Zellen mit dem Fluoreszenzfarbstoff PKH67. Dieser Farbstoff wird bei jeder Zellteilung zu etwa gleichen Teilen an die beiden Tochterzellen weitergegeben, so dass bei jeder Teilung eine Signalabschwächung erfolgt. Hierauf basierend lassen sich dann hochproliferative von gering proliferativen Zellen durchflusszytometrisch trennen. Die Isolation hochmigratorischer

Zellsubpopulationen gelang schließlich durch Transwell-Assays, bei denen Glioblastomzellen durch Poren einer Membran hindurchmigrieren, woraufhin migrierte von nicht migrierten Zellen separiert werden können.

Nachdem die Separationszeitpunkte für PKH67-markierte Zellen dahingehend optimiert worden waren, dass einerseits möglichst große Unterschiede der Proliferationsaktivität der Subpopulationen bestanden, andererseits möglichst viele Zellen pro Subpopulation für nachfolgende Untersuchungen zur Verfügung standen, erfolgten Enzymexpressionsanalysen auf Transkript- und Proteinebene. Diese ergaben, dass hochproliferative Zellen im Vergleich zu gering proliferativen Zellen eine signifikant verminderte Expression von Glykolyseenzymen bei erhöhter Expression von PPP Enzymen aufweisen (Abb. 2A, B im Manuskript). Im Gegensatz hierzu zeigen hochmigratorische Zellpopulationen eine verstärkte Expression von Glykolyseenzymen bei verminderter Expression von PPP Enzymen. Darüberhinaus weisen hochmigratorische Zellen eine verstärkte Expression von Tumorstammzellmarkern auf, wohingegen hochproliferative Zellen eine verminderte Expression zeigen, was dafür spricht, dass sich langsam teilende Zellen eine ausgeprägteren Stammzellphänotyp besitzen.

Im Antrag war zudem geplant, Untersuchungen zur selektiven Stimulation der Proliferation bzw. der Migration durchzuführen. Leider stellte sich jedoch heraus, dass bei einigen der GS-Linien die Stimulation der Migration durch SF/HGF auch einen geringen aber signifikanten stimulierenden Einfluss auf die Proliferation hatte. Auch die Stimulation der Proliferation durch EGF und FGF-2 ging teilweise mit verstärkter Migration einher, so dass diese Effekte letztlich nicht selektiv genug waren, um verlässliche Schlüsse über die dichotome Enzymregulation zu ermöglichen.

Statt dessen erweiterten wir das ursprüngliche Antragskonzept um eine vertiefende Fragestellung. Denn die funktionelle Bedeutung der Glykolyse für die Zellmigration ist bislang weitestgehend unklar (wohingegen die Relevanz des PPP für die Proliferation vergleichsweise offensichtlich ist, da dieser essentielle Moleküle für die DNA/RNA und Fettsäuresynthese bereitstellt). Interessanterweise haben mehrere Glykolyseenzyme zusätzliche Funktionen die über den reinen Abbau von Glukose hinausgehen ("moonlighting functions"). Insbesondere finden sich in der Literatur Hinweise, dass die Glukose-6-phosphat-Isomerase (GPI), welche den zweiten Schritt der Glykolyse katalysiert, die Migration/Invasion verschiedener Zellen stimulieren kann. So wurde GPI unabhängig von seiner glykolytischen Funktion als ein von Melanomzellen sezernierter Faktor entdeckt, der autokrin die Migration der Zellen stimulieren kann und wurde demzufolge als "Autocrine Motility Factor" (AMF) bezeichnet². Die Identität von GPI und AMF wurde erst später nachgewiesen³. Sezerniertes GPI/AMF bindet an den zelloberflächenständigen, G-Protein gekoppelten Rezeptor, AMFR, welcher ebenfalls eine duale Funktion hat auch und im endoplasmatischen Retikulum als E3 Ubiquitin Ligase fungiert⁴.

Da wir vermuten, dass AMF auch für die Migration/Invasion von Gliomzellen bedeutsam sein könnte, führten wir Untersuchungen zur Hypoxie-bedingten Regulation von GPI/AMF und dessen Rezeptor AMFR durch. Die Analyse unserer vorhandenen Microarray-Daten zur Genexpression unter akuter und chronischer Hypoxie bzw. Normoxie zeigte, dass sowohl GPI/AMF als auch der Rezeptor AMFR unter Hypoxie verstärkt exprimiert sind. Dies ließ sich durch quantitative PCR an zwei GS Zelllinien bestätigen. Immunhistochemische Untersuchungen an Gewebeschnitten von Glioblastomen zeigten, dass sowohl AMF als auch AMFR besonders stark in hypoxischen Regionen exprimiert sind. Darüberhinaus ließ sich der AMFR auch in einigen Zellen des tumorumgebenden Hirngewebes nachweisen, was dafür sprechen könnte, dass GPI/AMF, welches vom Tumor produziert wird, Zellen der Mikroumgebung des Tumors wie z.B. Mikroglia, Astrozyten, Endothelzellen, mesenchymale und neurale Stammzellen, stimuliert. Eine Analyse der REMBRANDT online-Datenbank, in der Genexpressionsdaten von mehr als 400 humanen Gliomen gespeichert sind, zeigte ferner, dass Glioblastompatienten mit niedriger intratumoraler GPI/AMF Expression eine bessere Überlebensprognose haben als Patienten mit höherer Expression. Zusammenfassend deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass zum einen ein autokriner stimulatorischer Loop vorliegen könnte, bei dem sich Glioblastomzellen durch GPI/AMF Sekretion über den AMFR selbst motogen stimulieren, zum anderen ist auch eine parakrine Stimulation von Zellen des infiltrierten Hirngewebes möglich. Basierend auf diesen präliminären Arbeiten ist es nun Ziel

des Folgeprojekts, die funktionelle Bedeutung und Regulation des GPI/AMF-AMFR Systems in Glioblastomen detailliert zu untersuchen.

Arbeiten zu Ziel 2

Im zweiten Arbeitsteil wurde untersucht, ob die Zellmigration/Invasion und die Proliferation von Glioblastomzellen durch Herunterregulation von Schlüsselenzymen der Glykolyse bzw. des PPP sowie durch Enzyminhibitoren selektiv inhibiert werden können. Diese Analysen sollten Aufschluss darüber geben, ob die Glykolyse bzw. der PPP direkt kausal in die dichotome Regulation von Zellmigration bzw. -proliferation involviert sind. Analysen mit Enzyminhibitoren zeigten, dass eine Inhibierung der Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PD), des ersten und hauptregulatorischen Enzyms des PPP, mittels 6-Aminonicotinamid (6-AN) die Proliferation hemmte, bei gleichzeitiger Steigerung der Migration (Abb. 4A). Demgegenüber bewirkte eine Inhibierung der Hexokinase mittels 2-Deoxyglucose eine Hemmung sowohl der Proliferation als auch der Migration (Abb. 4B).

Die Expression von G6PD und Aldolase C (des am stärksten hypoxieinduzierten Enzyms der Glykolyse) wurde mittels shRNA in zwei Glioblastomzelllinien erfolgreich herunterreguliert (Abb. 5A, B). In vitro Analysen ergaben, dass eine Herunterregulation von G6PD konsistent eine verminderte Proliferation zur Folge hatte, wohingegen eine Herunterregulation von Aldolase C eine verminderte Migration bewirkte (Abb. 5C, D). Zusätzlich fand sich bei der Zelllinie GS-11 eine (kompensatorisch) verstärkte Migration bei der Herunterregulation von G6PD sowie eine verstärkte Proliferation bei Herunterregulation von Aldolase C.

In vivo Experimente mit der hochproliferativen aber nicht-invasiven Zelllinie G55 zeigten, dass die Herunterregulation von G6PD zu vermindertem Tumorwachstum bzw. verlängertem Überleben in einem Maus-Glioblastommodell führte. Demgegenüber hatte die Herunterregulation von Aldolase C ein verkürztes Überleben zur Folge (Abb. 6A, C). Dabei war die Proliferationsrate der Tumorzellen in vivo durch die Herunterregulation von G6PD erniedrigt, wohingegen sie bei Herunterregulation von Aldolase C erhöht war (Abb. 6A, C). G55-Zellen wiesen generell eine sehr hohe Proliferationsrate in vitro und in vivo auf, so dass ihr Wachstum vermutlich in hohem Maße abhängig von einer hohen Aktivität des PPP ist. Dies erklärt vermutlich den überlebensverlängernden Effekt der G6PD-Herunterregulation. Demgegenüber beeinträchtigte die Herunterregulation von Aldolase C die Zellmigration in vitro, und die Migration ist in dem nicht-invasiven G55 in vivo Modell offensichtlich von geringer Bedeutung.

GS-11 Zellen bilden im Mäusehirn typischerweise hochinvasive Tumore, die jedoch nur sehr langsam über viele Monate wachsen. Im GS-11 in vivo Modell zeigte sich kein tumorwachstumsinhibierender Effekt bei Knockdown von Aldolase C oder G6PD (Abb. 6B, D). Die Proliferationsrate der GS-11 Tumore war insgesamt gering, war jedoch leicht erhöht in Tumoren mit Herunterregulation von Aldolase C sowie leicht erniedrigt bei Herunterregulation von G6PD. Offenbar reichte die Beeinträchtigung allein der Migration oder aber alternativ der Proliferation (die in vitro zu beobachten waren) nicht aus, um einen signifikanten in vivo Effekt zu bewirken.

Zusammenfassend deuten diese Daten darauf hin, dass eine Inhibierung von G6PD bzw. des PPP eine wirksame Strategie sein könnte, um hochproliferative Glioblastomzellen am Wachstum zu hindern. Dagegen scheint Aldolase C wichtiger für das Überleben von Zellen unter schwerem hypoxischem Stress sowie für die Zellmigration zu sein und könnte insofern ein Target für die Inhibierung der Gliomzellinvasion sein. Idealerweise sollten beide metabolischen Wege gemeinsam blockiert werden, was durch Inhibition von Hexokinase 2 (HK2) geschehen könnte, da HK2 den initialen enzymatischen Schritt für beide Stoffwechselwege katalysiert (Abb. 3).

Im Antrag war zudem geplant worden, die Hypothese zu testen, dass selektierte hochproliferative sowie hochmigratorische Zellen (aus dem Arbeitsteil 1) unterschiedlich sensitiv gegenüber Inhibitoren von Glykolyse und PPP sein würden. Experimente mit den Inhibitoren 6-AN und Erythrose-4-Phosphat erbrachten jedoch bislang relativ heterogene und nicht eindeutig dichotome Ergebnisse für verschiedene Zelllinien, so dass diese Ergebnisse bislang keine generalisierbare Interpretation erlaubten.

Arbeiten zu Ziel 3

Im dritten Arbeitsteil wurde untersucht, ob der Switch zwischen PPP und Glykolyse als Reaktion auf Schwankungen der Sauerstoffkonzentration nur für Glioblastomstammzellen (GS-Linien) zutrifft oder ein generelles Phänomen ist. In Kooperation mit Frau Prof. Herold-Mende und Herrn Prof. Glass erfolgten hierzu Enzymexpressionsanalysen an einem Spektrum unterschiedlicher Zelltypen unter Hypoxie und Normoxie. Dabei wurden sowohl normale (untransformierte) Zelltypen, die im Hirn vorkommen (Astrozyten, mesenchymalen Stammzellen, Endothelzellen, Fibroblasten, mononucleären Zellen), als auch verschiedene Tumorzelltypen (Glioblastom, Leber- und Brustkrebs) untersucht. Konsistentes Ergebnis dieser Analysen war, dass in allen Zelltypen Hypoxie zu einer verstärkten Expression von Glykolyseenzymen bei verminderter Expression von PPP Enzymen führte. Dies ließ sich sowohl auf Transkriptebeine durch quantitative PCR Analysen (Abb. 1A) als auch auf Proteinebene durch Western Blot Analysen (Abb. 1B) bestätigen. Demzufolge ist der Hypoxie-induzierte Switch zwischen PPP und Glykolyse tatsächlich ein generelles Phänomen und ist nicht auf GS-Zellen beschränkt. Ebenso war eine verstärkte Migration unter Hypoxie (Abb. 1D), einhergehend mit einer verringerten Proliferation (Abb. 1C), durchweg für alle Zelltypen zu beobachten. Diese Ergebnisse sind zum einen in Einklang mit der Tatsache, dass Hypoxie die Metastasierung von Tumoren fördern kann⁵, zum anderen deuten sie darauf hin, dass eine verstärkte Migration hirneigener Zellen in Glioblastomen, geleitet von hypoxischen Gradienten, die beiderseitige Interaktion zwischen Tumor- und Stromazellen fördern kann.

Ausblick:

Die während der bisher knapp zweijährigen Förderperiode erbrachten Ergebnisse bilden die Grundlage für ein Anschlussprojekt, für das eine Weiterförderung durch die Anni Hofmann Stiftung in Aussicht gestellt wurde. In diesem Anschlussprojekt werden einerseits konkrete Fragestellungen, die sich aus den bisherigen Arbeiten ergeben haben vertiefend bearbeitet. Andererseits wird das Projektziel dahingehend erweitert, dass künftig die metabolische Heterogenität von Glioblastomen analysiert wird, sowie weitere metabolische Wege, welche mit den bisher untersuchten assoziiert sind, bezüglich ihrer Eignung als therapeutische Angriffsziele evaluiert werden.

Detaillierter vertieft werden sollen insbesondere die Arbeiten zur Analyse der funktionellen Bedeutung und Regulation des GPI/AMF-AMFR Systems in Glioblastomen (Ziel 1 des Folgeantrags). Hierzu erfolgen Untersuchungen zur Regulation der Migration/Invasion, Proliferation und Apoptose von Gliomzellen durch AMF. Die Induzierbarkeit des GPI/AMF-AMFR Systems durch Hypoxie wird analysiert, es erfolgen Expressionsanalysen an einem repräsentativen Spektrum von Gliomen sowie Untersuchungen zum Tumorwachstum in einem Glioblastom-Mausmodell. Die im Rahmen der ersten Förderperiode vertiefte Kooperation mit den Arbeitsgruppen von Frau Prof. Herold-Mende und Herrn Prof. Glass ermöglicht es insbesondere, die Bedeutung des GPI/AMF-AMFR Systems für die Interaktion von Glioblastomzellen mit Wirtszellen zu untersuchen, da durch diese Kooperation ein breites Spektrum humaner hirneigener Normalzellen wie Astrozyten, Hirnendothelzellen, mesenchymale und neurale Stammzellen sowie Microglia und lymphozytäre Zellen zur Verfügung steht.

Zweites Ziel des Folgeantrags sind Untersuchungen zur intratumoralen sowie intertumoralen metabolischen Heterogenität. Hierzu wird ein stabiles Zellmarkierungssystem entwickelt, mit dem sich das Schicksal einzelner Tumorzellen sowohl in vitro als auch in vivo im Mäusehirn verfolgen lässt. Hierdurch kann die metabolische Adaptationsfähigkeit einzelner Zellen innerhalb eines Tumors bei metabolischem Stress (z.B. Hypoxie, Glukosemangel) verfolgt werden, es können Faktoren identifiziert werden, die zu aggressiverem Wachstum bzw. Prädominanz einzelner Klone in vivo beitragen oder die für eine Chemo- und Strahlenresistenz bestimmter Klone verantwortlich sind. Für die Untersuchung der intertumoralen Heterogenität steht uns dank der Kooperation mit Prof. Glass und Frau Prof. Herold-Mende ein breites Spektrum an murinen und humanen Gliomzelllinien mit unterschiedlichen genetischen Alterationen zur Verfügung. Hieran erfolgen zum einen Genexpressionsanalysen zur Identifikation differenziell regulierter Metabolismus-assoziiierter Gene, zum anderen wird

untersucht, ob Gliomzelllinien mit unterschiedlichen zu Grunde liegenden genetischen Veränderungen in unterschiedlicher Weise vulnerabel sind für die Inhibierung definierter metabolischer Wege.

Drittes Ziel des Folgeantrags ist zu untersuchen, inwiefern andere metabolische Wege, die mit der Glykolyse und dem PPP verknüpft sind, durch Hypoxie bzw. Oxygenierung reguliert werden. Hierzu gehören der Serin/Glycin-Metabolismus, der Folsäure (C1)-Stoffwechsel, der Methioninzyklus sowie die Purin- und Pyrimidinbiosynthese. Unsere vorläufigen Genexpressionsanalysen deuten auf ein komplexes regulatorisches Muster dieser Stoffwechselwege hin, dessen Validierung bzw. Charakterisierung Ziel des Folgeprojekts ist.

Zitierte Literatur

1. Kathagen A, Schulte A, Balcke G, et al. Hypoxia and oxygenation induce a metabolic switch between pentose phosphate pathway and glycolysis in glioma stem-like cells. *Acta Neuropathol.* 2013;126(5):763-780.
2. Liotta LA, Mandler R, Murano G, et al. Tumor cell autocrine motility factor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83(10):3302-3306.
3. Watanabe H, Takehana K, Date M, Shinozaki T, Raz A. Tumor cell autocrine motility factor is the neuroleukin/phosphohexose isomerase polypeptide. *Cancer Res.* 1996;56(13):2960-2963.
4. Fairbank M, St-Pierre P, Nabi IR. The complex biology of autocrine motility factor/phosphoglucose isomerase (AMF/PGI) and its receptor, the gp78/AMFR E3 ubiquitin ligase. *Mol Biosyst.* 2009;5(8):793-801.
5. Semenza GL. The hypoxic tumor microenvironment: A driving force for breast cancer progression. *Biochim Biophys Acta.* 2015.

Zusammenfassung

Das Projekt baute auf Vorarbeiten auf, in denen wir entdeckt hatten, dass die Expression von Enzymen des Pentosephosphatwegs (PPP) und der metabolische Flux durch den PPP sowie die Zellproliferation bei akuter Hypoxie herunterreguliert werden, wohingegen Glykolyseenzyme und glykolytischer Flux sowie die Zellmigration gesteigert werden. Bei Oxygenierung hypoxischer Zellen erfolgt ein umgekehrter enzymatischer Switch. In dem geförderten Projekt wurden nun detaillierte Untersuchungen zur Assoziation bzw. kausalen Verknüpfung von Glykolyse und PPP mit dem funktionellen Verhalten der Zellen durchgeführt. Übergeordnetes Ziel hierbei war es, therapeutische Ansatzpunkte zu identifizieren, um durch Eingreifen in den Tumorzellmetabolismus das aggressive - einerseits hochinvasive, andererseits hochproliferative - Verhalten der Tumorzellen zu inhibieren. Hauptergebnisse der Arbeiten sind folgende:

1. Die Assoziation zwischen PPP und Proliferation bzw. zwischen Glykolyse und Migration besteht auch unabhängig von Veränderungen der Sauerstoffkonzentration. Hochproliferative Glioblastomzellen weisen gegenüber gering proliferativen eine deutlich erhöhte Expression von PPP Enzymen bei erniedrigter Expression von Glykolyseenzymen auf. Demgegenüber zeigen migrierende Zellen verglichen mit nicht migrierenden Zellen eine verstärkte Expression von Glykolyseenzymen bei erniedrigten PPP Enzymen. Hieraus folgt, dass offenbar Glykolyse und der PPP intrinsisch mit der dichotomen präferenziellen Aktivierung von Migration versus Proliferation verknüpft sind.
2. Glykolyse und der PPP sind direkt mechanistisch bedeutsam für die Regulation der Zellmigration bzw. der Zellproliferation. Durch Herunterregulation der Expression besonders stark hypoxieregulierter Schlüsselenzyme beider Stoffwechselwege (Aldolase C bzw. G6PD) mittels shRNA sowie durch Enzyminhibitoren konnten wir zeigen, dass eine Beeinträchtigung des PPP eine verminderte Proliferation zur Folge hat (teilweise einhergehend mit gesteigerter Migration), wohingegen eine Beeinträchtigung der Glykolyse zu verminderter Migration in vitro führt (teilweise einhergehend mit gesteigerter Proliferation).

3. Die Herunterregulation von G6PD in einer hochaggressiven bzw. hochproliferativen Glioblastomzelllinie führte zu einem verlangsamten Tumorwachstum in einem Maus-Hirntumormodell, wohingegen die Herunterregulation von ALDOC zu beschleunigtem Tumorwachstum führte. Demgegenüber hatte in einem langsam proliferativen aber hochinvasiven Maus-Glioblastommodell keine der beiden Herunterregulationen einen Effekt auf die Gesamttumorausdehnung. Diesen Ergebnissen zufolge könnten vor allem Inhibitoren von G6PD therapeutisch geeignet sein, das rasche Wachstum der Haupttumormasse zu hemmen.

4. Die Hypoxie-induzierte verminderte Expression von Enzymen des PPP bei gesteigerter Expression von Glykolyseenzymen, sowie auch die durch Hypoxie gesteigerte Migration und verminderte Proliferation waren in einem breiten Spektrum untersuchter Tumor- und nicht-Tumorzelllinien zu beobachten und sind demnach universelle Phänomene. Hieraus ist zu schließen, dass eine verstärkte Migration von hirneigenen Zellen in Glioblastomen entlang hypoxischer Gradienten vermutlich die gegenseitige Interaktion zwischen Tumor- und Stromazellen fördern kann.

Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse, dass metabolische und funktionelle zelluläre Programme intrinsisch miteinander verknüpft sind und dass die Glykolyse bzw. der PPP kausal mechanistisch in die Regulation von Migration versus Proliferation involviert sind.